植 物 分 类 与 资 源 学 报　2011, **33** (5): 540～546
Plant Diversity and Resources　DOI: 10.3724/SP.J.1143.2011.11009

珍稀濒危植物三棱栎种子的储藏特性鉴定*

陈虹颖[1,2], 孙卫邦[1], 李唯奇[1**]
(1 中国科学院昆明植物研究所, 云南 昆明　650201; 2 中国科学院研究生院, 北京　100049)

摘要: 由于三棱栎种子存在较高败育率, 导致无法准确检测种子初始萌发率, 因此对三棱栎种子的储藏特性一直不清楚, 无法对该珍稀濒危物种提供最佳长期保存方案。本研究通过种子重力分离技术和 X 光成像系统检测技术, 对三棱栎 (*Formanodendron doichangensis*) 的成熟种子进行优化清理, 成功排除了空瘪种子对萌发实验的影响, 通过研究脱水、低温和超低温对三棱栎种子活力的影响, 明确鉴定了三棱栎种子的储藏特性, 为该珍稀濒危物种提出最佳长期储藏方案。结果表明, 种子重力分离技术有效地将三棱栎种子的饱满率从处理前的 47%, 提高到处理后的 86%。根据国际种子储藏特性鉴定方法, 三棱栎种子的含水量降到 5% 以下, 种子活力为 95%, 仍与对照 (92%) 一致。极低含水量 (<5%) 的种子, 在低温 (-20℃) 和超低温 (-196℃) 保藏处理 3 个月后, 其活力仍为 90% 和 91%。以上数据表明, 三棱栎的种子能够耐受极端脱水和低温保藏, 属于正常型种子, 可以运用常规的种子库保存技术和储藏条件 (即脱水低温条件) 长期保存, 该方法是珍稀濒危植物三棱栎种质资源进行长期保藏的最佳方法。

关键词: 三棱栎; 种子储藏特性; 耐脱水; 耐低温
中图分类号: Q 945　　**文献标识码**: A　　**文章编号**: 2095-0845(2011)05-540-07

Seed Storage Behavior of *Formanodendron doichangensis* (Fagaceae), a Rare and Endangered Plant

CHEN Hong-Ying[1,2], SUN Wei-Bang[1], LI Wei-Qi[1**]
(1 *Kunming Institute of Botany*, *Chinese Academy of Sciences*, Kunming 650201, China;
2 *Graduate University of Chinese Academy of Sciences*, Beijing 100049, China)

Abstract: The seed storage behavior of *Formanodendron doichangensis* (Fagaceae) was still unclear due to the effect of empty seeds to the germination experiment caused by high abortion. Therefore there was lack of a best storage method for conserve this rare and endangered plant. In the present paper, the Selecta Gravity Separator and the X-ray imagine systems were introduced to successfully enhance the portion of the full and healthy seeds from the high aborted seed lot, and exclude the effect of empty seeds to the germination experiment. Moreover, the desiccation tolerance and low temperature tolerance of *F. doichangensis* seeds were tested to identify the seed storage behavior and the best storage method for this endangered species was provided. The results showed that Selecta Gravity Separator could efficiently improved the percentage of full seeds in the seed lot from 47% (before clean) to 86% (after clean). *F. doichangensis* seeds kept high viability at 95% total germination similar to that of control seeds (92%), when experienced the extreme desiccation treatment (moisture content below 5%). After the storage at low temperature (-20℃) and liquid nitrogen (-196℃) for three months with low moisture content (<5%), the seed germination remained at 90% and 91% respectively. In conclusion, the mature *F. doichangensis* seeds were desiccation tolerant and low temperature tolerant, which exhibited orthodox seed storage behavior according to the international

* 基金项目: 国家自然科学基金 NSFC (31070262)
** 通讯作者: Author for correspondence; E-mail: weiqili@mail.kib.ac.cn; Tel.: 0871-5223052
收稿日期: 2011-01-11, 2011-04-08 接受发表
作者简介: 陈虹颖 (1979-) 女, 博士研究生, 主要从事种子生理生化研究。E-mail: h.chen@mail.kib.ac.cn

seed storage behavior classification, and could be kept in the seed bank storage facilities for long term conservation.
Key words: *Formanodendron doichangensis*; Seed storage behavior; Desiccation tolerance; Low temperature tolerance

三棱栎（*Formanodendron doichangensis*（A. Camus）Nixon & Crepet）属于壳斗科三棱栎属，仅分布于我国云南南部和西南部的孟连、澜沧、沧源、西盟和勐海等县，生于海拔 1 000～1 600 m 的向阳山坡或山地常绿阔叶林中，泰国北部也有零星分布（Nixon 和 Crepet, 1989；孙卫邦等, 2004）。人类活动的干扰和物种自身存在的有性生殖过程异常导致三棱栎处于濒危状态，被列为国家二级重点保护植物（傅立国, 1992），因此对该濒危植物的生物多样性提供一种最佳长期保藏方案已迫在眉睫。

三棱栎在自然条件下主要通过种子进行繁殖，如果能对该物种的种子进行长期保藏，不仅可以高效率、低成本地保存三棱栎的种质资源，也可以在有限的空间内最大程度地保存三棱栎的遗传多样性，为三棱栎种质资源的离体培养和将来的回归引种提供材料。由于种子的储藏寿命是由种子的储藏特性和储藏方式决定的，而种子的储藏特性将决定种子的储藏方式，因此准确鉴定三棱栎种子的储藏特性，是为该物种提供有效保藏措施的关键。但是，由于三棱栎种子存在较高的败育率导致无法准确测定种子初始萌发率，因此迄今为止，三棱栎种子的储藏行为还不清楚。

成熟种子的初始萌发率是测定种子储藏行为时重要指标之一，之前对三棱栎种子初始萌发率有过不同的报道，为 9.5%（周元等, 2003）和介于 30%～40% 之间（郑艳玲, 2010）。由于三棱栎的大孢子在发育过程中，存在严重的败育现象，产生的种子具有较高的空瘪率，发育正常的三棱栎果实中五个胚珠将败育，而只有一个胚珠发育为种子（郑艳玲, 2010），并易遭受虫蛀（周元等, 2003）。如果在统计初始萌发率时未排除空瘪和虫蛀种子对实验结果的影响，不但无法判定种子是否存在休眠现象，而且也无法准确确定种子的储藏特性，影响对三棱栎种子长期收集保藏效果。因此，需要一种有效的方法，排除空瘪种子对萌发实验的影响，准确地鉴定三棱栎种子的储藏特性。

本研究证明种子重力分离技术和 X 光检测技术，是排除萌发实验中的空瘪或虫蛀种子的有效技术，通过使用该技术对三棱栎种子的初始萌发率进行重新检测和统计，并根据国际种子储藏行为鉴定的方法，对三棱栎种子在极低含水量（<5%）的萌发率及其对低温（−20℃）和超低温（−196℃）的耐受能力进行详细的研究，运用国际种子生物学标准对三棱栎的种子储藏特性进行准确的鉴定。此外，由于三棱栎属是栎属（*Quercus*）的祖先类群（Nixon 和 Crepet, 1989），而已报道的栎属植物的种子多为顽拗型种子（表 1），作为栎属的祖先类群三棱栎种子是否也属于顽拗型呢？明确三棱栎的种子储藏特性，不仅对进一步认识壳斗科物种的种子储藏习性的演化具有重要的意义，而且也为了解栎属的漫长的演化过程提供了新的线索和依据。

表 1　壳斗科 18 种植物种子储藏特性

Table 1　The seed storage behavior of eighteen species of Fagaceae

Species	Seed storage behavior	Reference
Castanea sativa Mill.	Recalcitrant	Leprince *et al.*, 1999
Castanopsis fissa (Champ. ex Benth.) Rehd. et Wils.	Recalcitrant	Tian and Tang, 2010
Cyclobalanopsis glauca (Thunb.) Oerst.	Recalcitrant	Liu *et al.*, 2006
Lithocarpus gigantophyllus (Hickel & A. Camus) A. Camus	Recalcitrant	Ellis *et al.*, 2007
Quercus acutissima Carr.	Recalcitrant	Xin *et al.*, 2007
Q. aliena Blume	Recalcitrant	Xin *et al.*, 2007
Q. austroglauca (Y. T. Chang ex Y. C. Hsu & H. W. Jen) Y. T. Chang.	Recalcitrant	Xia, 2010
Q. alba L.	Recalcitrant	Connor and Sowa, 2003
Q. cerris L.	Recalcitrant	Xia, 2010
Q. fabri Hance	Recalcitrant	Tian and Tang, 2010
Q. glauca Thunb.	Recalcitrant	Xia, 2010
Q. marilandica Münchhausen	Recalcitrant	Pence, 1990
Q. nigra L.	Recalcitrant	Bonner, 1996
Q. robber L.	Recalcitrant	Finch-Savage *et al.*, 1996
Q. robur L.	Recalcitrant	Xin *et al.*, 2007
Q. rubra L.	Recalcitrant	Pritchard, 1990
Q. suber L.	Recalcitrant	Xia, 2010
Q. variabilis Blume	Recalcitrant	Xia, 2010

1 材料和方法

1.1 实验材料

选用2010年2月采自云南沧源（23°32′N，99°98′E，海拔1 730 m）的成熟三棱栎种子为研究材料，采集后的种子保存于4℃，6个月后进行实验。

1.2 种子的分选

随机选取300粒三棱栎的新鲜种子，用种子重力分离机（Selecta Gravity Separator ZigZag-1，Machinefabriek BV Enkhuizen，Holland）对种子进行分离，将分离得到的空瘪种子及饱满种子分别存放，并利用数字化X光样品成像系统（MX-20-DC12，Faxitron，USA）对分离后的种子进行检测，以上处理进行5个重复后，根据成像结果计算分离后的种子饱满率。

1.3 脱水处理

将种子重力分离机处理后的饱满种子随机选取240粒，将其分为三份，每份80粒，分别装入含有5倍种子重量变色硅胶的密封袋中进行脱水处理，将密闭的密封袋置于干燥间中（15℃，15% Relative Humidity）进行快速脱水。在脱水27 h后，进行称量，得到脱水后种子鲜重，种子保持干燥待用。脱水过程中，如硅胶颜色发生改变后，及时对硅胶进行更换，以保证脱水速率均一。

1.4 低温及超低温保藏处理

在上述脱水后的三份种子中，每份种子将分别进行以下三种处理：1）脱水后萌发：随机选取15粒脱水后的种子，直接进行萌发实验；2）低温处理后萌发：随机选取30粒脱水后的种子，分为两份，每份15粒放于2 mL离心管，封口膜密封之后存放于-20℃储藏室中，分别保藏7 d和3个月后，接种于培养皿中进行萌发；3）超低温处理后萌发：随机选取30粒脱水后的种子，分为两份，每份15粒放于2 mL冻存管中，直接放入液氮中（-196℃），分别保藏7 d和3个月后，接种于培养皿中进行萌发。

1.5 萌发实验

将不同处理后（对照、脱水、低温及超低温处理）的种子播种于含有一层薄棉花和滤纸的培养皿中，每个培养皿15粒种子，每个处理3个重复。置于（25±1）℃下恒温培养，光源为白色暖荧光（光强15 μmol m^{-2} s^{-1}），光循环为白天/夜间（8/16 h）。以胚根伸长2 mm作为萌发标准，自播种3 d后开始间隔2 d记录种子萌发状态。以总萌发率来表示种子的活力。14 d后不再有种子萌发，确定为萌发结束。萌发结束后对于未萌发的种子进行切割实验，空瘪或虫蛀的种子不进行统计。

1.6 含水量和相对湿度检测

种子含水量（Water Content）的测定，依据国际种子检测协会标准ISTA（2007），在种子重力分离机处理后的饱满种子中随机选取15粒作为对照含水量检测样品，每一粒种子作为一个重复。同时在三份脱水27 h后装有80粒种子的脱水器中每份随机抽取5粒，共15粒种子作为脱水后种子含水量检测样本。种子含水量测定以鲜重（Fresh Weight，FW）作为基础进行计算。种子干重（Dry Weight，DW）以在烘箱103℃烘17 h后所得的重量计算。含水量按照以下公式进行计算：

$$WC = (FW - DW) / FW \times 100$$

种子相对湿度的测定，用放置于恒温房间〔(15±1)℃〕的密闭水活度测量仪（Hygrolab3-set40，Rotronic，Switzerland），分别对三份80粒种子脱水前及脱水27 h后的相对湿度进行检测。

1.7 数据统计分析

利用Origin软件作图，并计算平均值和标准误差；使用SPSS 15.0在$P<0.05$的水平上进行ANOVA比较，检测不同处理间的数据显著性，并标注到图表中。

2 结果

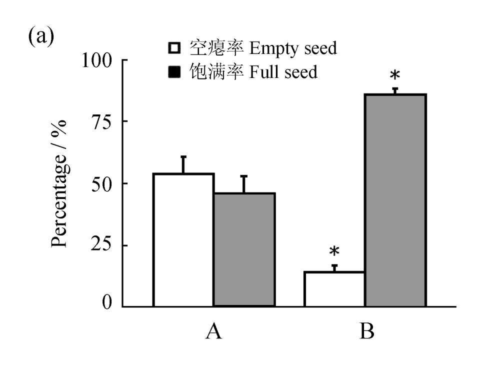
2.1 种子重力分离技术可大幅提高空瘪种子的分离效率

为了检测使用种子重力分离技术是否可以有效提高实验样品中饱满种子的比率，并保证下一步种子储藏特性鉴定的实验，采用数字化X光样品成像系统，分别检测未经处理和经过种子重力分离机处理后的三棱栎种子，比较种子空瘪率和饱满率（图1）。结果表明，未经种子分离机处理的种子样品，种子空瘪率高达53%，而饱满率仅为47%（图1：a）。而经过种子分离机处理后，种子样品中的种子空瘪率由原来的53%，下降到14%，即种子样品的饱满率高达86%（图1：b），与未处理的种子样品相比，有显著性差异（$P<0.05$）。由于三棱栎种子的种长、种宽及千粒重在居群内有显著差异（郑艳玲，2010），种子重力分离技术虽然无法完全清除种子样品中的空瘪、虫蛀种子，但配合X光检测技术，可以有效地统计重力分离机的分离效率，并对后期的初始萌发率的统计提供参考。

2.2 三棱栎种子耐受极度脱水

为鉴定三棱栎种子储藏特性，按照国际种子储藏行为分类标准，以经过种子重力分离机处理后的饱满三棱栎种子为研究材料，测定该物种种子耐受极端脱水的能力。使用硅胶使种子快速脱水27 h后，种子的含水量从未脱水前的8.11%，显著下降到4.89%（$P<0.05$），相对湿度也表现

出显著下降趋势（$P<0.05$），从 50.61% 降低到 8.67%（图 2）。对于三棱栎种子的脱水程度，已经达到界定种子是否属于正常型种子的含水量范围（MC<5%，RH<15%）。将脱水后的三棱栎种子进行萌发实验，并与对照比较。结果显示，经过种子重力分离机处理后的三棱栎种子，其对照的初始萌发率为 92%（图 3：a），种子重力分离机的使用可以有效排除空瘪种子对三棱栎初始萌发率统计的干扰。饱满的三棱栎种子在（25±1）℃



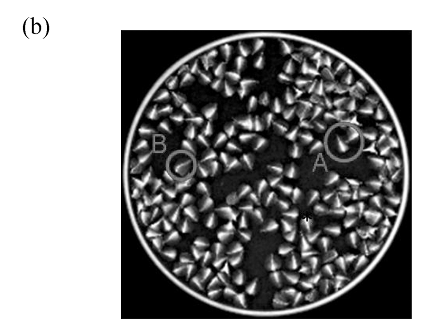


图 1　种子重力分离机处理前后，种子饱满率和空瘪率的比较
（a）种子重力分离机处理前后，检测出的饱满率和空瘪率。白色柱子代表空瘪率，灰色柱子代表饱满率。其中 A 代表未经分离机检测前；B 代表分离机检测后饱满种子中的比率。数值均为平均值±标准误差（$n=5$），星号代表该值与未处理前有显著差异（$P<0.05$）。（b）代表数字化 X 光样品成像系统对分离机处理后饱满种子的图像，其中 A 代表饱满种子；B 代表空瘪种子

Fig. 1　The Comparison of full seeds and empty seeds with and without seed gravity separator treatment
（a）The percentage of full seeds and empty seeds with and without gravity separator treatment. The white columns represent empty seeds and the grey columns represent full seeds. "A" represents without separator treatment; "B" represents full seeds with separator treatment. Values are means ±S. E.（$n=5$）, the asterisk indicats that the value is significant difference from seeds without separator treatment（$P<0.05$）.（b）represents the image with separator treatment from the digital X-ray image system; "A" represents full seed and "B" represents empty seed

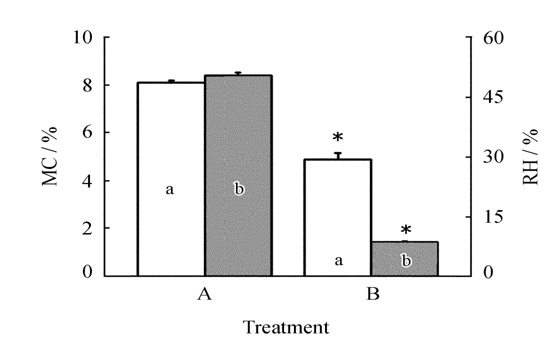
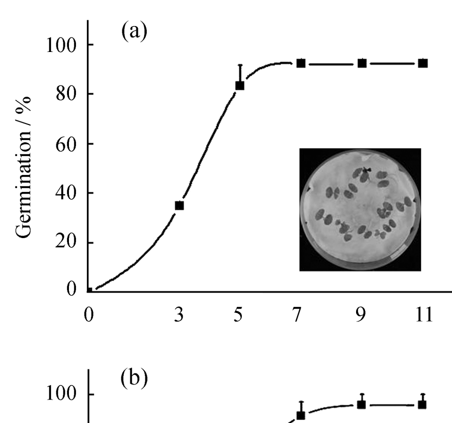


图 2　种子脱水前和脱水后的含水量及相对湿度
数值为平均值±标准误差（$n=3$）。其中，a 代表种子含水量；b 代表种子相对湿度。"A" 代表脱水前；"B" 代表脱水后，星号代表该值与未脱水处理前有显著差异（$P<0.05$）

Fig. 2　The moisture content and relative humidity of seeds with and without desiccation treatments
Values are means ±S. E.（$n=3$）. "a" represent moisture content and "b" represent relative humidity. "A" represents without desiccation treatment; "B" represents with desiccation treatment, and the asterisk indicates that the value is significant difference from seeds without desiccation treatment（$P<0.05$）



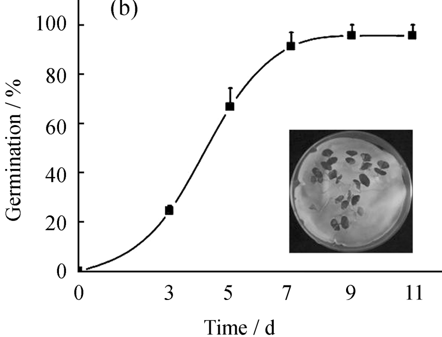


图 3　对照种子和脱水 27 h 后的种子萌发率及小苗图示
数值为平均值±标准误差（$n=3$，每个重复 15 粒种子）。
（a）对照；（b）脱水 27 h 后种子萌发率

Fig. 3　Total germination and pictures of seedling of control seeds and seeds after desiccated for 27 h
Values are means ±S. E.（$n=3$, each replicate contains 15 seeds）.
（a）control;（b）seeds after desiccated for 27 h

恒温培养条件下，3 d 后萌发率达到 40%，7 d 后完成萌发，且萌发率高达 92%（图 3：a），实验证明，三棱栎种子不具有休眠特性，排除了休眠对本研究的干扰。经硅胶脱水后的种子含水量下降到 4.89%，其萌发率仍可高达 95%，与对照相比无显著差异（图 3：b），而且种子生长速率并未受到任何影响。三棱栎种子耐受极度脱水，具备正常型种子的必要条件之一。

2.3 三棱栎种子脱水后耐受低温和超低温保藏

为了检测脱水后的三棱栎种子是否具备正常型种子的另一必要条件，即低温耐受性，将脱水后（含水量为 4.89%）的三棱栎种子进行了低温（-20℃）和超低温（-196℃）分别储藏 7 d 和 3 个月的实验。结果表明，三棱栎种子在含水量低于 5% 的条件下，进行低温和超低温储藏 7 d 后，种子萌发率分别为 95% 和 90%（图 4：a，b）；在低温和超低温储藏 3 个月后，种子的萌发率分别为 90% 和 91%（图 5：a，b）；与对照相比没有显著性差异，而且在播种 14 d 之后均能长出正常的小苗（图 4，5）。这些结果，充分说明三棱栎种子具备正常型种子的另一必要条件，即低温耐受性。

3 讨论

准确测定成熟种子的初始萌发率是进一步检测种子储藏行为的重要指标之一。本研究通过改良后的种子清理方法和 X 光检测，有效消除了空瘪或虫蛀种子对三棱栎种子初始萌发率统计的影响，对改善实验数据产生了很好的效果，澄清了先前对三棱栎种子的不实报道，并对具有跟三

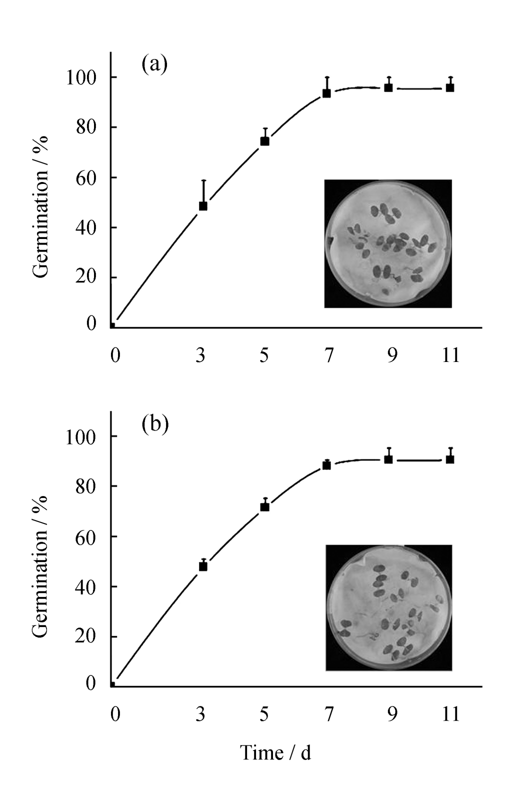


图 4 脱水处理后，低温（-20℃）及超低温（-196℃）保存 7 天的种子萌发率及小苗图示
数值为平均值±标准误差（n=3，每个重复 15 粒种子）。（a）低温（-20℃）保存后萌发率；（b）超低温（-196℃）保存后萌发率

Fig. 4 Total germination and pictures of seedling of seeds stored at -20℃ and -196℃ after desiccation
Values are means ±S. E. (n=3, each replicate contains 15 seeds). (a) seeds stored at -20℃; (b) seeds stored at -196℃

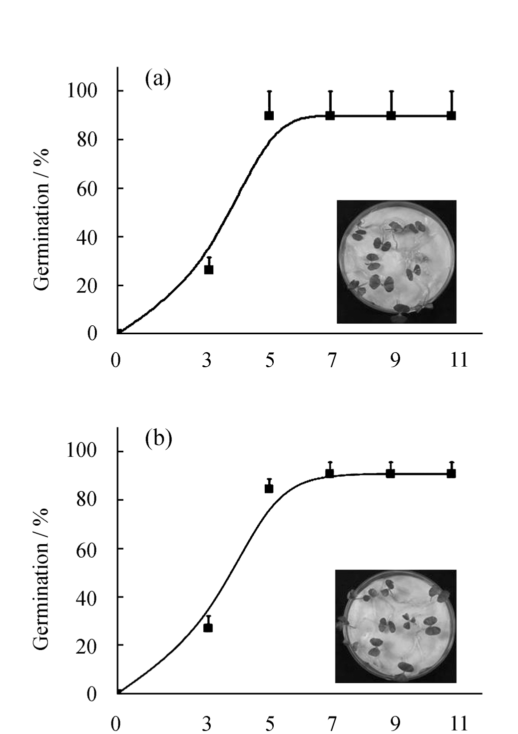


图 5 脱水处理后，低温（-20℃）及超低温（-196℃）保存 3 个月的种子萌发率及小苗图示
数值为平均值±标准误差（n=3，每个重复 15 粒种子）。（a）低温（-20℃）保存后萌发率；（b）超低温（-196℃）保存后萌发率

Fig. 5 Total germination and pictures of seedling of seeds stored at -20℃ and -196℃ for 3 months after desiccation
Values are means ±S. E. (n=3, each replicate contains 15 seeds). (a) seeds stored at -20℃; (b) seeds stored at -196℃

棱栎类似高空瘪率种子的实验有很好的启示和借鉴。实验结果表明去除空瘪和虫蛀的种子后，三棱栎种子的初始萌发率可高达 92%，同时也排除了三棱栎种子具有休眠特性。之前三棱栎种子初始萌发率的报道可能未消除空瘪种子和虫蛀种子对实验统计的影响，因而认为三棱栎种子的萌发率不高，也不能确定三棱栎种子是否具有休眠特性。本研究利用种子重力分离法和 X 光检验，有效地降低了实验种子样品的空瘪率，避免了在种子初始萌发率测定时对实验结果的干扰，不仅为准确鉴定种子的储藏特性提供了保障，而且提高了种子库的保存效率，使空瘪种子不再占用宝贵的保藏空间和资源，对于有效保存珍稀濒危植物种质资源以及开展相关的种子生物学和保护生物学研究提供了重要技术支持。对于因生殖失败或异常而导致濒危的物种的种子储藏特性鉴定，并为其提供最佳保藏方案提供了一种切实可行的技术方法和手段。如蚬木（*Excentrodendron hsienmu*）成熟胚囊的败育率高达 88%，果实中可育种子数仅有 9%（高辉等, 2006）、红花木莲（*Manglietia insignis*）成熟胚囊的卵细胞败育率为 79.1%（潘跃芝和龚洵, 2002），毒药树（*Sladenia celastrifolia*）成熟种子的数目仅占胚珠总数的 0.22%（陈国科, 2005），永瓣藤（*Monimopetalum chinense*）、鹅掌楸（*Liriodendron chinense*）等珍稀濒危物种的雌配子体都有较高的败育，导致种子的空瘪率较高（谢国文和林文, 1999；秦慧贞和李碧媛, 1996）。

根据种子的储藏特性可以将种子分为三大类（Ellis, 1973；Ellis 等, 1990）：“正常型”种子、“顽拗型”种子和“中间型”种子。之前对三棱栎种子的储藏特性研究中，由于不能准确鉴定初始萌发率，而无法准确确定种子的储藏特性（周元等, 2003；郑艳玲, 2010）。虽然郑艳玲等（2010）对种子耐脱水性进行了初步研究，发现种子耐受脱水，推测三棱栎种子有可能是正常型种子，但该研究并未对极端脱水，即含水量 MC <5% 条件下，其萌发率及脱水后耐受低温储藏的能力进行研究，因此也无法准确判定种子的储藏特性。本研究通过改良后的种子清理方法和 X 光检测，确保了三棱栎种子的初始萌发率，并按国际种子生物学判定种子储藏行为的标准（Hong 和 Ellis, 1996；Ellis 等, 2007），系统研究了三棱栎种子的脱水、低温和超低温处理 7 天和三个月后，三棱栎的种子萌发率。实验结果表明三棱栎种子在含水量下降到 5% 以下，保藏于低温条件（–20℃）三个月后，种子的萌发率为 90%，与对照的初始萌发率无明显差别。根据国际种子储藏特性的判断标准，可以确定三棱栎属于“正常型”种子，因此通过目前种子库的保存技术，即通过脱水和冷冻的方法对进行长期保存，是延长其寿命的最佳保藏方案。

壳斗科植物是我国亚热带和温带阔叶森林中的建群种和优势种，也是森林生态系统中的关键类群，系统地了解该类群的种子储藏特性，有利于对其制定高效地种质资源收集和保存方案，对我国系统地开展战略性生物资源的收集和保存工作具有重要的指导意义。然而，目前对于我国壳斗科等重要亚热带森林植物种子的储藏特性并不清楚（Li 和 Pritchard, 2009）。据 Dickie 和 Pritchard（2002）的统计推测，壳斗科的植物中约有 80.2% 的物种产生顽拗型种子，而且大部分来自于栎属（*Quercus*），也有对于壳斗科不同物种种子储藏特性进行了零星的研究和报道（表 1）。而本研究发现，作为栎属的祖先类群三棱栎，所产生的种子是正常性种子，显得非常特别。这种特殊性可能与栎属植物的系统演化，以及在演化过程中所经历的气候因子和生物地理有着密切联系（周浙昆, 1992）。我们的发现为上述研究提供了一个新的证据，对于认识壳斗科植物种子贮藏习性的演化具有重要意义。此发现也可能成为研究栎属漫长演化历史的一个新线索。

致谢　西南林学院郑艳玲博士以及中国科学院昆明植物所韩春艳博士提供三棱栎种子材料。本文的撰写过程得到蔡杰先生的帮助。

〔参　考　文　献〕

傅立国, 1992. 中国植物红皮书—稀有濒危植物（第 1 册）［M］. 北京：科学出版社, 302

Bonner FT, 1996. Responses to drying of recalcitrant seeds of *Quercus nigra* L.［J］. *Annals of Botany*, **78**（2）: 181—187

Chen GK（陈国科）, 2005. A preliminary study of reproductive biology and population ecology of *Sladenia celastrifolia* Kurz. Kun-

ming: Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences (Master's thesis), 30

Connor KF, Sowa S, 2003. Effects of desiccation on the physiology and biochemistry of *Quercus alba* acorns [J]. *Tree Physiology*, **23** (16): 1147—1152

Dickie JB, Pritchard HW, 2002. Systematic and evolutionary aspects of desiccation tolerant in seeds [A]. In: Black M, Pritchard HW eds. *Desiccation and Survival in Plants*: *Drying Without Dying* [M]. London: CABI publishing, 239—259

Ellis RH, 1973. Predicting the storage life of seeds [J]. *Seed Science and Technology*, **1**: 499—514

Ellis RH, Hong TD, Roberts EH, 1990. An intermediate category of seed sotrge behaviour? I. Coffee [J]. *Journal of Experimental Botany*, **41** (9): 1167—1174

Ellis RH, Mai-Hong T, Hong TD *et al*., 2007. Comparative analysis by protocol and key of seed storage behaviour of sixty Vietnamese tree species [J]. *Seed Science and Technology*, **35** (2): 460—476

Finch-Savage WE, Blake PS, Clay HA, 1996. Desiccation stress in recalcitrant *Querus robber* L. seeds results in lipid peroxidation and increased synthesis of jasmonates and abscisic acid [J]. *Journal of Experimental Botany*, **47** (5): 661—667

Gao H (高辉), Tang Y (唐亚), Zhang LY (张立芸), 2006. Megasporogenesis and embryo sac development in *Excentrodendron hsienmu* (Malvaceae) with reference to the systematic affinities of *Excentrodendron* [J]. *Acta Phytotaxonomica Sinica* (植物分类学报), **44** (5): 538—550

Hong TD, Ellis RH, 1996. A protocol to determine seed storage behaviour. IPGRI Technical Bulletin No. 1 [Z]. Rome: International Plant Genetic Resources Institute

ISTA, 2007. *International Rules for Seed Testing* [M]. edition 2008. Zürich, Switzerland: International Seed Testing Association

Leprince O, Buitink J, Hoekstra FA, 1999. Axes and cotyledons of recalcitrant seeds of *Castanea sativa* Mill. exhibit contrasing responses of respiration to drying in relation to desiccation sensitivity [J]. *Journal of Experimental Botany*, **50** (338): 1515—1524

Li DZ, Pritchard HW, 2009. The science and economics of *ex situ* plant conservation [J]. *Trends in Plant Science*, **14** (11): 614—621

Liu MS, Chang CY, Lin TP, 2006. Comparison of phospholipids and their fatty acids in recalcitrant and orthodox seeds [J]. *Seed Science and Technology*, **34** (2): 443—452

Nixon KC, Crepet WL, 1989. *Trigonobalanus* (Fagaceae): Taxonomic status and phylogenetic relationships [J]. *American Journals of Botany*, **76**: 828—841

Pan YZ (潘跃芝), Gong X (龚洵), 2002. Megasporogenesis, development of female gametophyte of *Manglietia insignis* (Magnoliaceae) [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica* (西北植物学报), **22** (5): 1209—1214

Pence VC, 1990. Cryostorage of embryo axes of several large-seeded temperate tree species [J]. *Cryobiology*, **27**: 212—218

Pritchard HW, 1990. Water potential and embryonic axis viability in recalcitrant seeds of *Quercus rubra* [J]. *Annals of Botany*, **67** (1): 43—49

Qin HZ (秦慧珍), Li BY (李碧媛), 1996. Effects of female gametophyte abortion on the reproduction of *Liriodendron chinense* populations [J]. *Journal of Plant Resources and Enviornment* (植物资源与环境), **5** (3): 1—5

Sun WB (孙卫邦), Zhou Y (周元), Zhao JC (赵金超) *et al*., 2004. Current distribution, population attributes and biological characters of *Trigonobalanus doichangensis* in relation to its conservation [J]. *Acta Ecologica Sinica* (生态学报), **24**: 352—358

Tian MH, Tang AJ, 2010. Seed desiccation sensitivity of *Quercus fabri* and *Castanopsis fissa* (Fagaceae) [J]. *Seed Science and Technology*, **38** (1): 225—230

Xia K (夏柯), 2010. Fruit biology of genus *Quercus* (Fagaceae) [D]. Kunming Institute of Botany, 14—15

Xie GW (谢国文), Wen L (文林), 1999. Distribution status and conservation of *Monimopetalum chinense* [J]. *Biodiversity Science* (生物多样性), **7** (1): 15—19

Xin X (辛霞), Lin J (林坚), Jing XM (景新明), 2007. Dehydration and chilling sensitivity of several Fagaceae seeds [J]. *Seed* (种子), **26** (3): 10—13

Zheng YL (郑艳玲), 2010. Germplasm conservation and acclimatization biology of the endangered *Trigonobalanus doichangensis* (Fagaceae) [D]. Kunming Institute of Botany, 31—41

Zhou Y (周元), Sun WB (孙卫邦), Li CR (李从仁), 2003. Preliminary Study on Germination of *Trigonobalanus doichangensis* [J]. *Journal of Wuhan Botanical Research*, (武汉植物研究), **21** (1): 73—76

Zhou ZK (周浙昆), 1992. Origin, phylogeny and dispersal of *Quercus* from China [J]. *Acta Botanica Yunnanica* (云南植物研究), **14** (3): 227—236